

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号
特表2002-517751
(P2002-517751A)

(43) 公表日 平成14年6月18日 (2002.6.18)

(51) IntCl.⁷

G 0 1 N 27/447

識別記号

F I

G 0 1 N 27/26

テマコード* (参考)

3 3 1 H

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 30 頁)

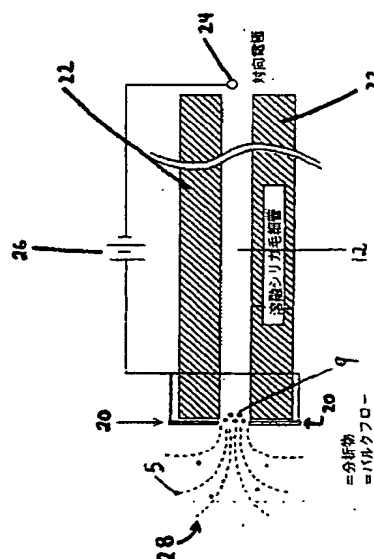
(21) 出願番号 特願2000-553795 (P2000-553795)
(86) (22) 出願日 平成11年6月11日 (1999.6.11)
(85) 翻訳文提出日 平成12年12月11日 (2000.12.11)
(86) 国際出願番号 PCT/US 99/13340
(87) 国際公開番号 WO 99/64851
(87) 国際公開日 平成11年12月16日 (1999.12.16)
(31) 優先権主張番号 60/088,956
(32) 優先日 平成10年6月11日 (1998.6.11)
(33) 優先権主張国 米国 (US)
(81) 指定国 EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), CA, JP, US

(71) 出願人 アリゾナ ボード オブ リージェンツ
アメリカ合衆国 アリゾナ 85287 テン
ペ アリゾナ ステート ユニヴァーシテ
ィ
(72) 発明者 ヘイエス, マーク エイ
アメリカ合衆国 アリゾナ州 85226 チ
ヤンドラー ダブリュ バルセロナ ドラ
イヴ 3583
(72) 発明者 ボルソン, ノーラン エイ
アメリカ合衆国 アリゾナ州 85224 チ
ヤンドラー ダブリュ シャノン ストリ
ート 1300
(74) 代理人 弁理士 柳田 征史 (外1名)

(54) 【発明の名称】 マイクロデバイス用の流れ及び物質の制御

(57) 【要約】

本発明は、一般的に、溶液の移動の制御およびこれらの溶液内の荷電サンプル成分の制御を行なう方法及び装置に関する。特に本発明は、溶液内で特別に選択されたサンプル成分の排除及び濃縮を可能とするものである。本発明は、毛細管或いは溝から、所望の特定のサンプル成分を排除する手段を有する、マイクロチップ或いは毛細管のいずれかをベースとした、初期濃縮の為の、或いはサンプル成分の移動の制御のための分析装置を提供するものである。このような制御システムは、溝内の溶液の流れを制御する手段と、このようなデバイスの各溝の入口直近に電極を配置することを含み、物質がバルクフローと電気泳動の両方の効果により電気的に操作できる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 溶液サンプル中の特定のサンプル成分の移動を制御する方法であって、

- (a) 入口を有する限定された流路を形成し、
- (b) 前記限定された流路の前記入口に、前記溶液サンプルを導入し、
- (c) 前記流路の前記入口に取り付けられた電極を形成し、該電極は、全体が前記限定された流路の外部にあり、
- (d) 前記サンプル成分の電気泳動の移動を促進するために、前記限定された流路内で電位勾配を生成するために前記電極に電圧を印加し、
- (e) 前記溶液の流量を前記電気泳動の移動と略等しく且つ逆向きに調節することにより、

前記特定のサンプル成分の移動が止まることを特徴とする、溶液サンプル中の特定のサンプル成分の移動を制御する方法。

【請求項2】 前記限定された流路が、溝であることを特徴とする請求項1の方法。

【請求項3】 前記限定された流路が、毛細管であることを特徴とする請求項1の方法。

【請求項4】 前記限定された流路が、直径200マイクロメートル未満であることを特徴とする請求項1の方法。

【請求項5】 前記溶液サンプルの前記流速が、電気浸透により制御されることを特徴とする請求項1の方法。

【請求項6】 前記溶液サンプルの前記流速が、圧力により制御されることを特徴とする請求項1の方法。

【請求項7】 前記限定された流路が、マイクロチップ上の溝であることを特徴とする請求項1の方法。

【請求項8】 溶液サンプル中のサンプル成分の移動を制御するための電気泳動装置であって、

- (a) 入口と、該入口に取付けられた、全体が限定された流路の外部にある電極とを有する少なくとも1つの前記限定された流路と、

(b) 前記電極に電圧を印加する電源と、
を備えることを特徴とする、溶液サンプル中のサンプル成分の移動を制御するための電気泳動装置。

【請求項9】 前記限定された流路が、マイクロチップ上に位置する溝であることを特徴とする請求項8の装置。

【請求項10】 前記限定された流路が、毛細管であることを特徴とする請求項8の装置。

【請求項11】 前記限定された流路と接する溶液中に緩衝液を含むためのバッファリザーバを更に有することを特徴とする請求項8の装置。

【請求項12】 前記限定された流路が、マイクロチップ内の溝であることを特徴とする請求項8の装置。

【請求項13】 前記限定された流路が毛細管であることを特徴とする請求項8の装置。

【請求項14】 前記限定された流路の直径が、200マイクロメートル未満であることを特徴とする請求項8の装置。

【請求項15】 溶液サンプル中のサンプル成分の移動を制御する電気泳動装置であって、

(a) 流路の入口に取り付けられた電極を有する少なくとも1つの注入溶液通路と、

(b) 前記流路の前記入口に取り付けられた電極を有する少なくとも1つの分離部或いは更に溶液移送流路と、

(c) 前記電極に電圧を印加する少なくとも1つの電源と、

(d) 前記溝内で前記バルクフローを調節する手段と、

を備える、溶液サンプル中のサンプル成分の移動を制御する電気泳動装置。

【請求項16】 前記限定された流路が、マイクロチップ内の溝であることを特徴とする請求項15の方法。

【請求項17】 前記限定された流路が、毛細管であることを特徴とする請求項15の方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】****概要**

本発明は、一般的に溶液及びこれらの溶液内の荷電されたサンプル成分の移動を制御する方法及び装置に関する。特に、本発明は、溶液内の特別に選択されたサンプル成分の排除或いは濃縮を可能とするものである。

【0002】

本発明は、サンプル成分の初期濃縮(preconcentration)の制御、或いは移動の制御のために、毛細管(capillary)或いは溝から所望の特定のサンプル成分を排除する手段を有する、マイクロチップ或いは毛細管(capillary)のいずれかに基づいた分析装置を提供するものである。このような制御システムは、物質が、バルクフロー(bulk flow)及び電気泳動のいずれか一方、或いは両方の効果によって直接操作されてもよいように、溝内の溶液の流れを制御する手段およびこのようなデバイスの各溝の入口直近に電極を設置することを含む。

【0003】**発明の背景**

キャピラリゾーン（毛細管領域）電気泳動(Capillary zone electrophoresis(CZE))は、電荷に基づく電場中のサンプル成分の移動度およびサンプル成分の分子部位及び形状に違いがあることを利用する、効果的な分析分離手法である。従来のCZEシステムは、1つのサンプルが注入される2つのリザーバ（溜め）に配置された出口及び入口端を有するバッファ（緩衝液）で満たされた毛細管と、毛細管に電圧を印加してこの毛細管を通じてサンプルの移動を生じさせる手段と、サンプルの領域を検出する手段とを典型的に備えている。

【0004】

サンプル注入システムおよびキャピラリゾーン電気泳動チャネルシステムは、サンプル成分を分離するために、平坦なガラス基板上に一体にされているが、このことはハリソン(Harrison)等（1992年、Anal. Chem. 64:1926-1932）およびセイラー(Seiler)等（1993年、Anal. Chem. 65:1481-1488）に記載されている。加えて、マイクロチップ上のキャピラリ（毛細管）電気泳動は、マンツ(Man

z)等(1992年, J of Chromatography 593: 253-258)によって記載されている。サンプルの移送(transport)、クロマトグラフィ或いは電気泳動による分離及び検出が全てなされている総合的な化学分析システム(TAS)が開発されてきた。

【0005】

従来のCZEの制約の1つは、サンプル成分の分離即ち分解能を得るために使用すべきサンプルが極めて少量であるということである。使用するサンプルが少量であるので、所望のサンプル成分は少量となり、サンプル成分の検出性に大きな制約となる。他方、毛細管に導入されるサンプル量が多くなると、サンプル成分のピークが拡大する。注入サンプルの量を増やそうとすると、実際に分解し或いは分離しようとする個々のサンプル成分のピークが広がって分解能が得られず、毛細管内に層流を生じさせることとなる可能性がある。

【0006】

所望の特定サンプル成分の濃度を増大させ、注入サンプルの幅を狭くするために、多くの手法が開発された。このような手法の1つは、固相吸着媒体(solid-phase adsorption medium)の使用と、その後続く、米国特許第5,453,382号に開示された、圧力による駆動および電氣的駆動による流れの連続的な組合せを含む。これらの手法を使用して所望のサンプル成分を含む溶液が、吸着媒体に所望のサンプル成分が収着(sorption)可能な条件の下で、固相吸着媒体に加えられる。媒体の環境は、次に濃縮されたサンプル成分の脱着を促進するように変えられ、電気浸透を引き起こすように媒体を横切って電位勾配が誘導される。米国特許第5,340,452号は、毛細管の入り口端に所望のサンプル成分を選択的に保持する活性物質を使用して、電気泳動に先だって、所望のサンプル成分の濃度を増大させる同様な方法について記述している。

【0007】

いくつかの特定のサンプルにとって、溶液の成分の分離が成功するための他の障害は、サンプル溶液とカラムバッファとを分けているバッファ中の電場の強度が低いことに起因している。この問題を回避するために、サンプル成分がサポートバッファ内に蓄積されている間に、電気浸透流を用いて毛細管即ちカラムから

水或いは希釈したバッファが取り除かれ、それによりサンプル成分がサンプル中に最少の層流で濃縮される。このような方法は、米国特許第5, 116, 471号に記載されている。

【0008】

限定された容器内の大量のサンプルに対しては、ホリ (H o r i) 等(1993年Anal. Chem. 65:2882-2886)によって記載されたように、加圧流或いは反対移動(countermigration)を全体の濃度を増大させるために使用できる。サンプルは、ガラス管によって他の容器に連結されているバッファを有する第1の容器に注入される。吸込圧力が加えられている間に、第1の容器内に延びた電極によってサンプルに電圧が印加される。サンプルの濃度は、印加された電位場(potential field)が、バッファの容積全体に亘り制約されないので、容器の分離された部分のサンプルを濃縮するよりも第1の容器内で増大する。濃度が増大し且つ電場が第1容器の全体積内で分散されるので、この技法は少ない量の注入／初期濃縮技法としては適用できない。更に、濃縮されたサンプルを有する容器内での電気泳動による分離の如き顕微操作を、この構成で行うことはできない。

【0009】

これ故、前述の方法のどれもが、不連続なバッファシステムの如き、そしてある場合には微小に設計された吸着デバイスの如き複雑なシステムを使用することなく、溶液サンプルを受容する限定された小容量の流路に注入するとすぐにサンプル成分の濃縮を行うというものではない。従って、一定のバッファを維持している間に、微小設計による吸着システムなしに、溶液サンプル内の所望のサンプル成分の濃度を増大させる一層正確且つ効果的な方法および装置に対する必要性が当分野にある。

【0010】

発明の概要

従って、本発明の目的は、限定された流路内で、特定の選択された化学種の排除或いは濃縮を可能とする溶液内で、溶液の移動、およびサンプル成分と称される荷電された化学種の移動を制御する、新規な一層効率的な方法を提供することにある。

【0011】

本発明の他の目的は、物質の初期濃縮或いは制御のために、毛細管或いは溝から所望の特定のサンプル成分を排除するマイクロチップ或いは毛細管を含む電気泳動分析装置を提供することにある。

【0012】

更なる本発明の目的は、単一の限定された流路システム内で初期濃縮および操作がなされる装置を提供することにある。特に、サンプルは、通路を通して移動しながら、限定された流路の部分で初期濃縮され、操作される。

【0013】

本発明のこれらのおよび他の目的は、

溶液サンプル中の特定のサンプル成分の移動を制御する方法であって、

- (a) 入口を有する限定された流路を形成し、
- (b) 前記限定された流路の前記入口に、前記溶液サンプルを導入し、
- (c) 前記流路の前記入口に取り付けられた電極を形成し、該電極は、全体が前記限定された流路の外部にあり、
- (d) 前記サンプル成分の電気泳動の移動を促進するために、前記限定された流路内で電位勾配を生成するために前記電極に電圧を印加し、
- (e) 前記溶液の流速をサンプルの前記電気泳動の移動と略等しく且つ逆向きに調節し、
- (f) 前記電気泳動の移動速度を前記溶液の流速と略等しく且つ逆向きに調節し、

これにより、前記特定のサンプル成分の移動が止まることを特徴とする、溶液サンプル中の特定のサンプル成分の移動を制御する方法、
によって得られる。

【0014】

更に本発明は、

溶液サンプル中のサンプル成分の移動を制御するための電気泳動装置であって、

- (a) 入口と、該入口に取付けられた、全体が限定された流路の外部にある

電極とを有する少なくとも1つの前記限定された流路と、

(b) 前記電極に電圧を印加する電源と、

を備えることを特徴とする、溶液サンプル中のサンプル成分の移動を制御するための電気泳動装置、
を提供するものである。

【0015】

更に本発明の他の目的は、

溶液サンプル中のサンプル成分の移動を制御する電気泳動装置であって、

(a) 流路の入口に取り付けられた電極を有する少なくとも1つの注入溶液通路と、

(b) 前記流路の前記入口に取り付けられた電極を有する少なくとも1つの分離流路と、

(c) 前記電極間に電圧を印加する少なくとも1つの電源と、

(d) 前記溝内で前記バルクフローを調節する手段と、

を備える、溶液サンプル中のサンプル成分の移動を制御する電気泳動装置、
を提供することにある。

【0016】

本発明は、サンプル溶液中の所望の成分の初期濃縮、化学反応、注入、検知、
或いは移動、或いは移動の停止に対して、溶液操作が利用できるいかなる種類の
サンプル溶液をも操作し、試験し、探査し、或いは分析する方法および装置に使用
することができる。

【0017】

一実施形態においては、本発明は、全ての或いは選択された溝の入り口直近に
配置された電極を有する複数の溝を備えた分析装置および溝内のバルクフローを
調節する方法に関する。バルクフローが特定のサンプル成分の電気泳動の移動と
略等しく、且つ逆であるとき、これら特定のサンプル成分の移動は停止する。バ
ルクフローの制御と組み合わせられた、溝内の電極間に電場を形成することによっ
て、溝に溶液サンプルを導入すると直ちに所望の選択されたサンプル成分が排除
され、或いは初期濃縮される。

【0018】

本発明の更なる目的と効果については、添付図面と共に以下の記載を読むことにより明確となろう。

【0019】好適な実施形態の詳細な説明

本発明は、溶液の移動を制御し且つこれらの溶液内の荷電サンプル成分の電気泳動を制御して溶液内の特定サンプル成分の排除或いは濃縮をするための新規な方法及び装置を提供するものである。典型的には溶液サンプルは、溝或いは毛細管の如き限定された流路内に運ばれ或いは注入される。本発明においては、流路は直径が200マイクロメートル未満であることが好ましい。溶液操作、サンプル成分の移動および溶液注入システムの正確な制御は、マイクロデバイスの各溝内の電位場勾配およびバルクフローを注意深く制御することによりなされる。

【0020】

毛細管或いは溝からサンプル成分を排除する手段としての電気泳動フォーカシングの原理は、ここに記載された極小な分析装置に適用できる。ここに開示された装置及び工程は、半導体デバイス内或いはその上に形成された溝内における制御流体力学とともに、マイクロチップ装置に使用することができる。ここに使用されているように、“マイクロチップ”という用語は、コンピュータに使用されるか或いはコンピュータと共に使用される微小純流体素子(microfluidic device)中に使用される、シリカ或いは任意の他の基板をも有する半導体デバイスを含む。

【0021】

本発明は、またマイクロデバイス上の各溝の入口直近に電極を設置するものであり、物質の移動は電氣的駆動による移動即ち電気泳動により直接操作される。本発明は、また溝内の溶液のバルクフローの制御部を提供するものである。バルクフローは、電氣的に駆動される流れの大きさおよび方向即ち電気浸透或いは圧力、対流、毛細管等の如き種々の他の流れの要因によって、左右される。電位勾配は、いずれかの方向に電気泳動させるために同様に操作される。

【0022】

電場を導入することにより、特定のサンプル成分の電気泳動を生じさせ、電気泳動と等しく且つ逆向きのバルクフローの操作と組み合わせて、これら特定サンプルの移動を停止させる。このように、これらのパラメータを別個に制御することにより、マイクロデバイスの周りの溶液内のサンプル成分の移動が自由に制御される。

【0023】

本発明の方法は、バッファで満たされた溝或いは毛細管内に、所望のサンプル成分を含むサンプルを導入する第1ステップを有する。サンプルの導入はスポイトを用いることによりなされ、それによりサンプル溶液は溝内に注入される。そうする代わりに、サンプルの導入を標準的な手順によって行うことができる。この手順は、電気浸透流、電気カイネチックポンプ、或いは空気ポンプの使用を含むが、これらに限定されるものではない。

【0024】

限定された流路を生成するために毛細管が使用される電気泳動集成装置を図1に示す。この集成装置では、電極20は溶融シリカ毛細管の外側でそれに取付けられている。他方の電極24は、電極20から離隔した位置に設置され且つその間に回路が形成される。電源26により電極20と24に高電圧が印加される。バッファバルクフロー物質を含むリザーバ28は、毛細管と流体が接している。荷電成分を含むサンプル5がリザーバに導入され、電気泳動を生じさせる電圧が印加されると、毛細管の入口9の方に移動する。このように、分析物5中の荷電成分は、毛細管22の入口9で濃縮される。

【0025】

本発明は、また、蝕刻された溝、或いは成形された溝を有する微小分析分離装置を提供し、これにより、種々の溝が分離及び分析のために使用され、また注入或いは図2A-Cに示された物質移動のために他のものが明白に使用される。図2Aに示されたように、システムは注入溝2と分離溝4を含む。サンプル物質は、図2Bに示されたように分離溝4の間にある注入溝2を満たすように注入される。注入を停止した後、主分離溝内に物質が意図せず移動して導入されてしまう、一般的にトレーリング或いはリーキングと称される導入を阻止するために、

2つの注入溝の電極5に低電圧が印加される。図2Cに示すように、最初に注入した後、分離溝内への物質の好ましくない導入を阻止するために、適切な電位勾配を生成するよう電極が使用され、それにより分離溝4内に所望の成分が濃縮する。流れと電場を独立して操作することにより、プラス、マイナス及び中性の分子を、グループとして或いは個別に操作してもよい。

【0026】

溝或いは毛細管の入口端及び出口端間に、電源手段により電極手段を介して高電圧が印加される。使用される電圧は、本発明にとって限定的なものではなく、排除され或いは濃縮されるサンプル成分によっては幅広く変化してもよい。適切な電圧条件を選択するための条件は、サンプル成分の物理的な特性に依存し、且つ当業者によって決めることができる。

【0027】

プラス或いはマイナスの電荷のサンプル成分を初期濃縮するために、本発明の方法は更に、物質の電気泳動速度と略同じ且つ逆向きのバルクフローを設定することを含む。毛細管内のバルクフローは電気浸透、圧力、或いは種々の他のメカニズムによって生成され且つ制御されてもよい。バルクフローは、電気浸透ポンプデバイス、空気デバイスによって生成され且つ制御されてもよく、或いは動的制御及びモニタ（監視）をして、電気浸透により直接生成及び制御されてもよい。このようにして、所望のサンプル成分がバルクフローによって溝の方に引かれるが、同様な電気泳動速度を有する物質の狭い範囲への電場効果によって溝から排除され、これにより、毛細管或いは溝の入口直近で所望のサンプル成分が排除され或いは濃縮される。

【0028】

代わりに、所望の物質の分離或いは注入がなされるいかなる限定的な流路、例えば、熔融シリカ或いはテフロン毛細管もデバイスに含んでよい。物質の移動を制御するのに望ましい溝或いは連続した流路は、各溝或いは通路の入口と出口に隣接した電極を有するように構成される。側部の溝の入口に電極を配置して、電気泳動、および特定の溝内に流動源がある場合には電気浸透を生じさせることができる電場を制御する。この方法によって、本発明では、限定された流路内で初

期濃縮と分析が統合される。

【0029】

図2A-Cに示すように、本発明の好適実施形態において、注入溝2は分離溝4と直交しているが、この交差点の形状はここに示されたコンセプトにとって直接重要ではない。電極5、6は、溝2、4の入口直近に位置し、2つの溝2、4が交差する結合部に電氣的に連結されている。毛細管或いは溝の入口直近に電極を配置し、および他の溝或いはバッファリザーバとの結合部に電極を配置することにより化学的な電圧ゲートを生成し、物質の移動を電位場勾配および特定の溝内の流速を、単に変えることにより独立して制御してもよい。この化学的な電圧ゲートで、所望の物質が電気泳動フォーカシング技法(electrophoretic focusing technique)を用いて隣接する溝に全く入らないようにし、或いは溝に入ることを選択的に可能にするようにしてもよい。

【0030】

図3に示された本発明の他の実施形態では、バッファ溶液5を有するリザーバは、溝12と液体が接するように配置され、電極9は溝11の入口直近に配置される。バッファリザーバは入口の電極と同じ電圧に維持され、物質がリザーバ内で電気泳動しないようにしている。しかしながら、荷電物質はバルクフローと同じ速度で溝の入口に向かって移動する。溝の入口直近では、印加された電場の効果が荷電物質に影響を与え、電気泳動を生じさせる。溝内のバルクフローは、電気泳動と略同じであり、且つ逆向きなので、所望の荷電物質は停止する。

【0031】

溶液の流速は、例えば、ギディングス (Giddings) (1991, Unified Separations Science, Wiley-Interscience, New York Chapt. 3)により教示された下記の技法：圧力をかけた流れ、毛細管、および電気浸透により制御してもよい。特に、制御可能な流れ或いは圧力を生成するいかなる物理的或いは化学的手段によっても圧力は制御できる。毛細管はギャラード (Gallardo) 等(1999, Science 283:57-60)によって教示されたように、化学的、電気化学的、または光励起面(photo-induced surface)、或いは溶液の変化によって制御することができる。電気浸透は、ツダ (Tsuda) (1998, Handbook of Capillary Electrophoresis

, Ed. J.P. Landers. 2nd ed., CRC Press Boca Raton, Chap. 22)により教示されたように外部の放射状静電場によって制御できる。

【0032】

本発明の方法及び装置は、所望の物質の初期濃縮、化学反応、注入、検知、または移動或いは移動の規制に、溶液の操作が使用できるいかなる種類の溶液をも操作し、試験し、探査し、或いは分析するために使用してもよい。ここに記載された方法及び装置によって、いくつかの大きさのオーダーで、物質の局部濃度を増大させる能力に加えて、微小化学分析装置内で正確な液体の注入、及び取扱いを可能にする。

【0033】

本発明の特定の実施例について更に詳細に説明する。これらは例示を意図したものであり、本発明は、これらの実施例に示された特定の物質および方法に限定されるものではない。

【0034】

以下に述べる実施例は、他に記載がなければ以下の標準化学薬品及び装置を使用して実施されたものである。

【0035】

化学薬品及び物質。リン酸二水素ナトリウムおよび無水エチルアルコール(ウィスコンシン州、ミルウォーキー、Aldrich Chemical Company);およびリン酸(ニュージャージー州、ギブスタウン、EMG/NCV Science社)を標準品として使用した。毛細管は、長さ45cm(外径150 μ m、内径20 μ m)であり、熔融シリカはPolymicro Technologies社(アリゾナ州、フェニックス)から購入し、0.2 μ mカルボキシレート修飾された黄緑色の蛍光(505/515)ラテックス微小球はMolecular Probes社(オレゴン州、ユージーン)から購入した。ラテックス微小球の実験に使用されたキャピラリー電気泳動バッファは、リン酸でpH5.1に調整された100mMリン酸塩緩衝液であった。

【0036】

設備。キャピラリー電気泳動システムを構築し、Spellman High Voltage Electronics Corporation(ニューヨーク州、Hauppauge)のCZE1000R 高電圧

電源を用いた。真空ポンプシステムは、Cenco Hyvac社(インディアナ州、フォートウェイン)から購入した。レーザー光源は442.325 nm、100 mW : (Omnichrome Laser, Chino, Cat Scan)であった。画像の目視検査は、オリンパス、ヴァネックス ステレオ顕微鏡(日本国、東京)に合体されたケース密閉型の5ECCDカメラ(HutchNet, East Hartford, Construction)により行った。データ収集および分析は、ラブビュー ソフトウェア(Labview software) およびインハウスプログラム開発(テキサス州、オースチン、National Instrument社)によるImaq Pci-1408 image acquisition board を使用して行った。データ分析もまた、Optiplex GXI ペンティアム233(テキサス州 ラウンドロック, Dell Computer Corporation)を用いて、マイクロソフト、エクセル、スプレッドシートプログラムで実行した。真空及び電場を調整したときに、カルボキシレート修飾ラテックス微小球からの蛍光信号をモニタした。

【0037】

実 施 例 1

図4に示す毛細管30及びリザーバ32装置を用いて、特定物質の増大した局部濃度を効果的にモニタする実験を行った。毛細管の先端を、金属34でコーティングし、金属の電極を形成した。これらの実験は、蛍光鏡検法、蛍光がつけられたラテックス微小球、真空流および金属をコーティングした毛細管の先端を用いて行った。

【0038】

カルボキシレート修飾ラテックス微小球の存在及び位置は、真空により生じた流れの効果の下で顕微鏡によって直接観測された。電圧は、次に微小球の電気泳動速度によって、微小球が毛細管に進入することがないようになるまで実験的に調整した。濃度に直接関係する蛍光信号の強度をモニタした。入り口外側直近で、毛細管に平行であり且つ毛細管の径に中心を合わせた、約 $2.5\text{ }\mu\text{m} \times 120\text{ }\mu\text{m}$ の選択されたプローブ領域のみを、蛍光強度の変化について計測した。

【0039】

最初に、制御実験を、吸着或いは他の未知の工程が、増大した蛍光の要因であるかどうかを決定するために行った。これらの制御実験は、電場のみ(-14 k

v) 或いは、内径 $20\ \mu\text{m}$ 、長さ $45\ \text{cm}$ の毛細管中で約 $3.0\ \text{cm}$ (1.2 インチ) の水銀柱の真空により生成された流れのみのいずれかを使用して構成されている。図5に示すように、蛍光信号を4分間モニタして計測した。蛍光信号は、時間的データ(temporal data)からいかなる既存の背景の蛍光をも取り除くために、 $t = 0$ 分で得られた蛍光信号によって標準化した。制御実験の標準化された蛍光信号は、4分間の実験(図6)を通じて、 1.75 ± 9.32 ($n = 11$) の値であった。実験の間、いかなる蛍光強度の増大も観察されず、下記の実験において増大した蛍光強度にはいかなる未知の機構も、毛細管先端への吸着および壁への吸着も寄与していないことを示している。

【0040】

一旦、毛細管の溝内で電気泳動の速度が、バルクバッファの低い速度と同じ、且つ逆向きに調節されたときに初期濃縮を実際に行うために実験を行った。制御実験では、蛍光強度を標準化し、次に4分間($n = 4$)モニタした。バルクフロー速度と釣り合う電気泳動の速度を生成するために経験的に決定された電圧は、 $14\ \text{kV}$ であった。図7AおよびBは、 270 秒間 $200\ \text{nm}$ の蛍光を付したラテックス微小球の初期濃縮の夫々前後の毛細管入り口の蛍光顕微鏡写真である。図7Bおよび図4に示したように、最も大きな蛍光強度の変化は、毛細管入り口から $33\ \mu\text{m}$ 以内で発生した。ダイナミックレンジの制約により、毛細管の入り口での蛍光強度がCCDを飽和させるので、この効果の測定は、毛細管の入り口の外側約 $19.2\ \mu\text{m}$ でなされなければならない。 $19.2\ \mu\text{m}$ での標準化された蛍光は、略一次方程式($y = mx + b$)により蛍光強度が増大する。ここで、 m は $0.042\ \text{arb. ユニット/分}$ であり、 b は $0.99\ \text{arb. ユニット}$ ($R^2 = 0.938$ 、 $P \leq 0.01$) である。微小球の初期の濃縮は、 1.473×10^{10} 微小球/mLであった。

【0041】

時間の経過とともに生じる初期濃縮は、フィルタの如き部分的に拒絶するバリア(障壁)の背後で蓄積する物質に関する、一定の溶質の濃度の背景に重ねられた指数ゾーン(exponential zone)の形成のモデルとして表すことができる。この場合のフィルタは、印加された電場および生じた電気泳動の速度によって毛細

管から微小球を排除する。前記システムが、所定の時間の後、安定した状態に達するとして、微小球の背景濃度は、 J_0/v 初期流速に等しい。微小球の濃度の蓄積は、次の等式により与えられる。

【0042】

$$c = J_0 \cdot v + (c_0 - J_0 \cdot l \cdot v) \exp(-|v| \cdot y / D_T)$$

ここで、微小球の濃度は c によって与えられ、微小球の流れは J_0 によって与えられ、バリアへの流速は v であり、微小球の初期の濃度は c_0 によって与えられ、バリアからの距離は y で与えられ、微小球の全体の拡散は D_T で与えられる。所望の成分の濃度対装置内における位置を図4に示す。

【0043】

ラテックス微小球および制限された流路を形成する溶融シリカ毛細管について本発明を説明したが、本発明の精神を離れることなく、当業者によって種々の変形変更が容易になされ得ることが理解されるべきである。このような変更は請求の範囲内にあるように意図される。従って、前述の開示は、例示としてのみ解釈されるべきであり、限定した意味合いで解釈すべきではない。種々の刊行物がここに開示されており、それらの内容は引用により、そのままここに導入される。

【図面の簡単な説明】

【図1】

毛細管内で電圧制御をするために入口の直近に配置された電極を有する、本発明による溶融シリカキャピラリー装置の概略図である。

【図2A】

本発明による、注入溝及び分離溝を有するマイクロデバイス装置の概略図である。

【図2B】

本発明による、注入溝及び分離溝を有するマイクロデバイス装置の概略図である。

【図2C】

本発明による、注入溝及び分離溝を有するマイクロデバイス装置の概略図である。

【図3】

バッファリザーバ内で電圧が一定に維持された溝の入口直近での物質の初期濃縮を示す、本発明によるマイクロデバイス装置の概略図である。

【図4】

所望の物質の濃縮を示す、毛細管の入口直近での初期濃縮の理論的な形状の概略図である。

【図5】

2つの制御実験について、標準の蛍光強度対毛細管入口から外側の距離を示すグラフである。

【図6】

標準の蛍光強度対毛細管入口の外側のピクセル（1ピクセル＝0.24 μm ）数を示すグラフである。

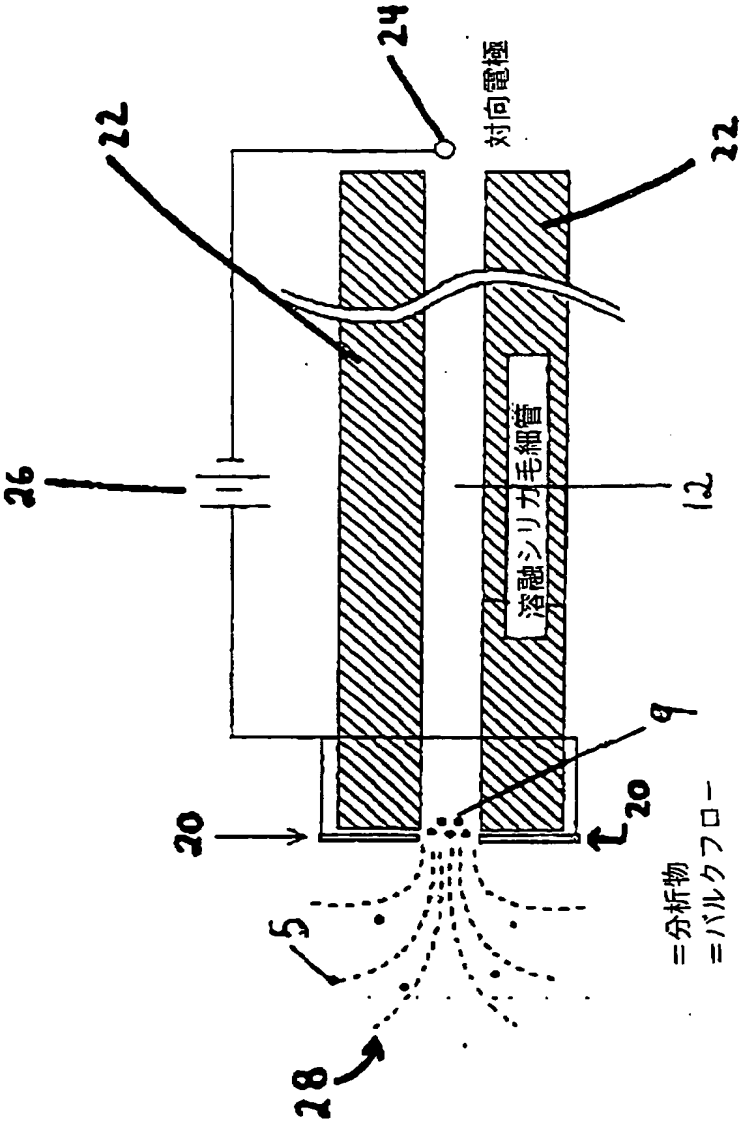
【図7A】

270秒間に亘り、200nmの蛍光をつけられたラテックス微小球の初期濃縮のそれぞれ前後の毛細管入口の蛍光顕微鏡写真である。

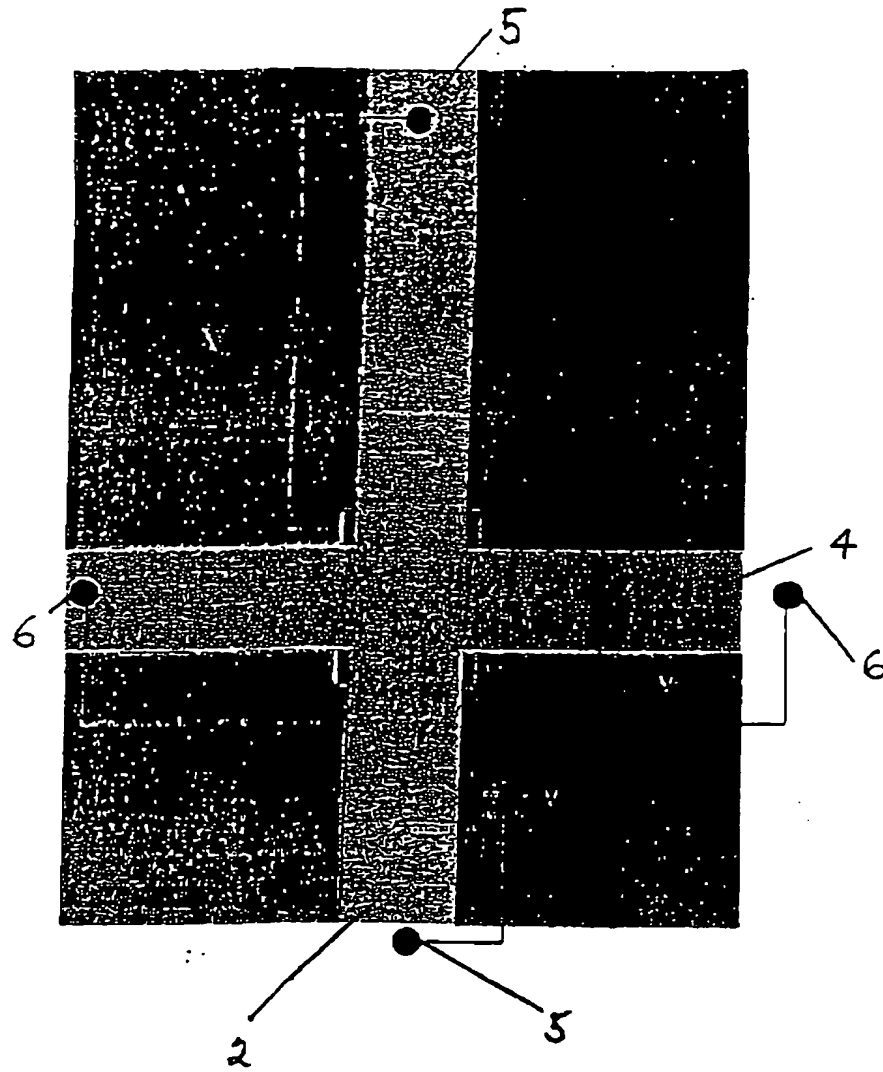
【図7B】

270秒間に亘り、200nmの蛍光をつけられたラテックス微小球の初期濃縮のそれぞれ前後の毛細管入口の蛍光顕微鏡写真である。

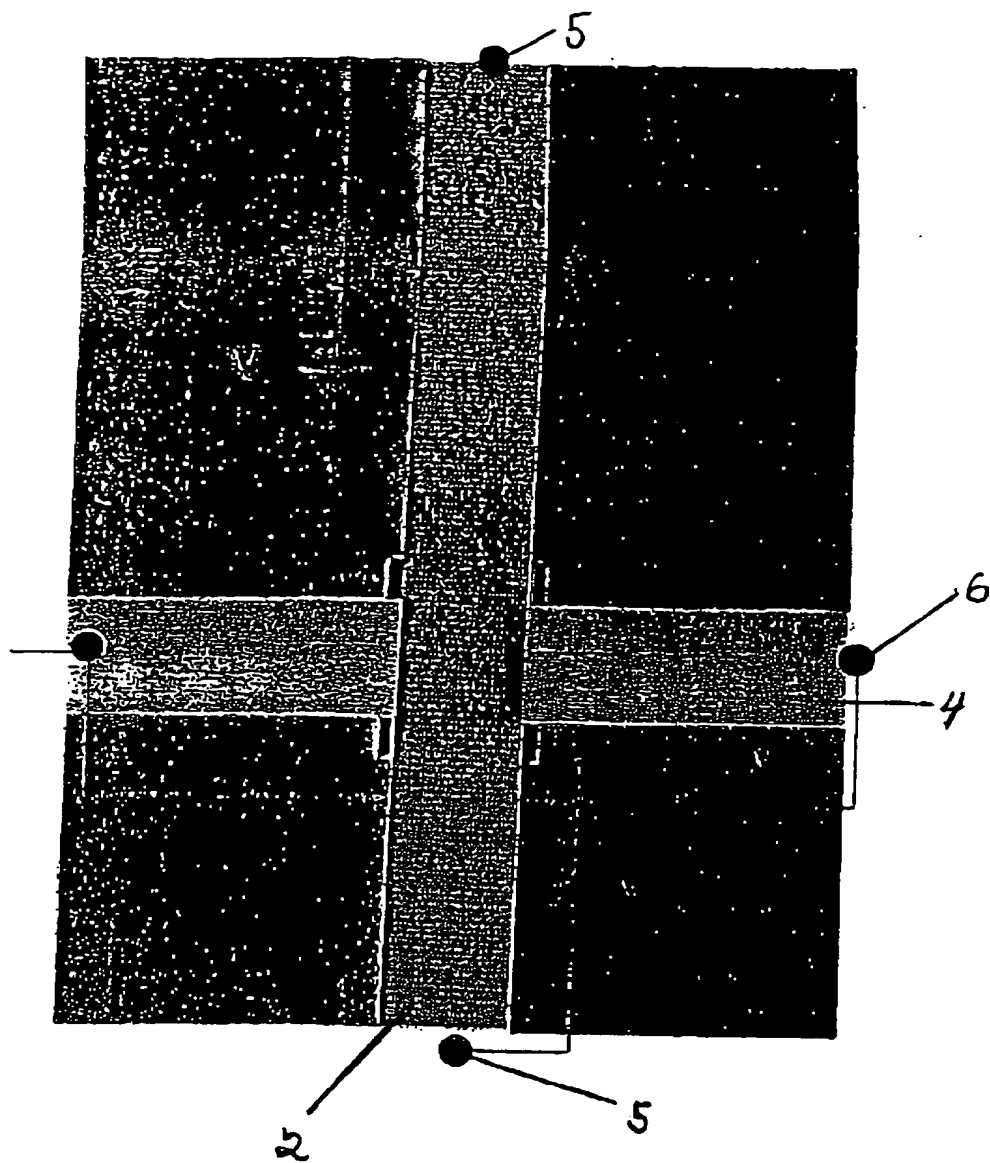
【図1】



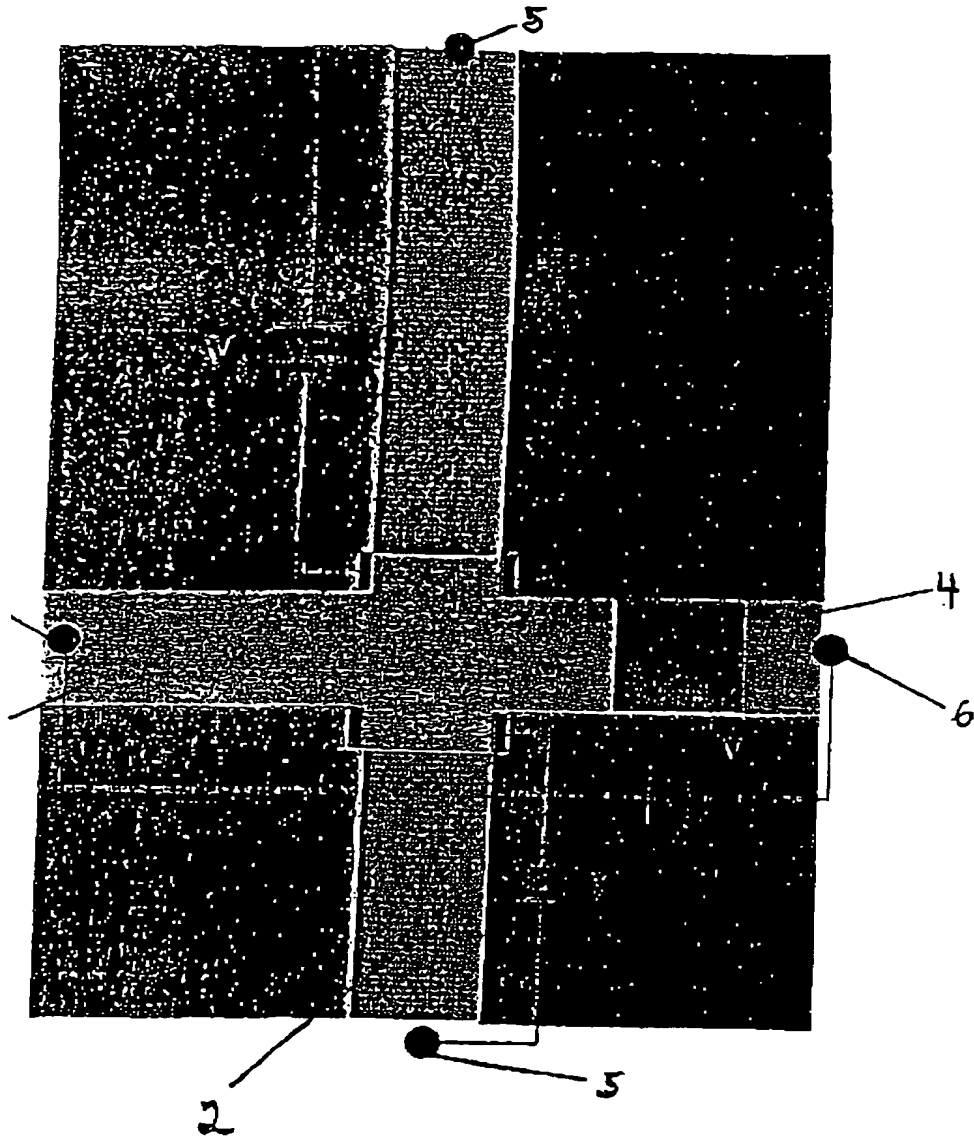
【図2A】



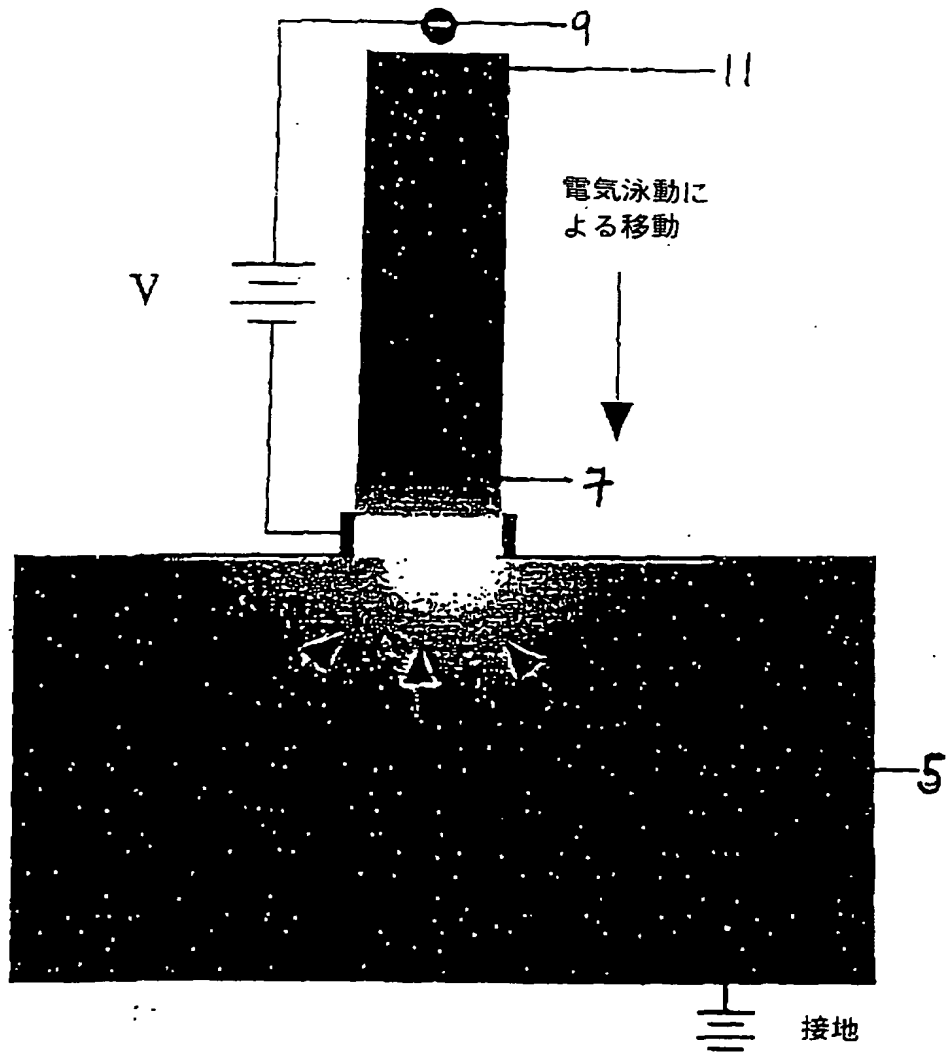
【図2B】



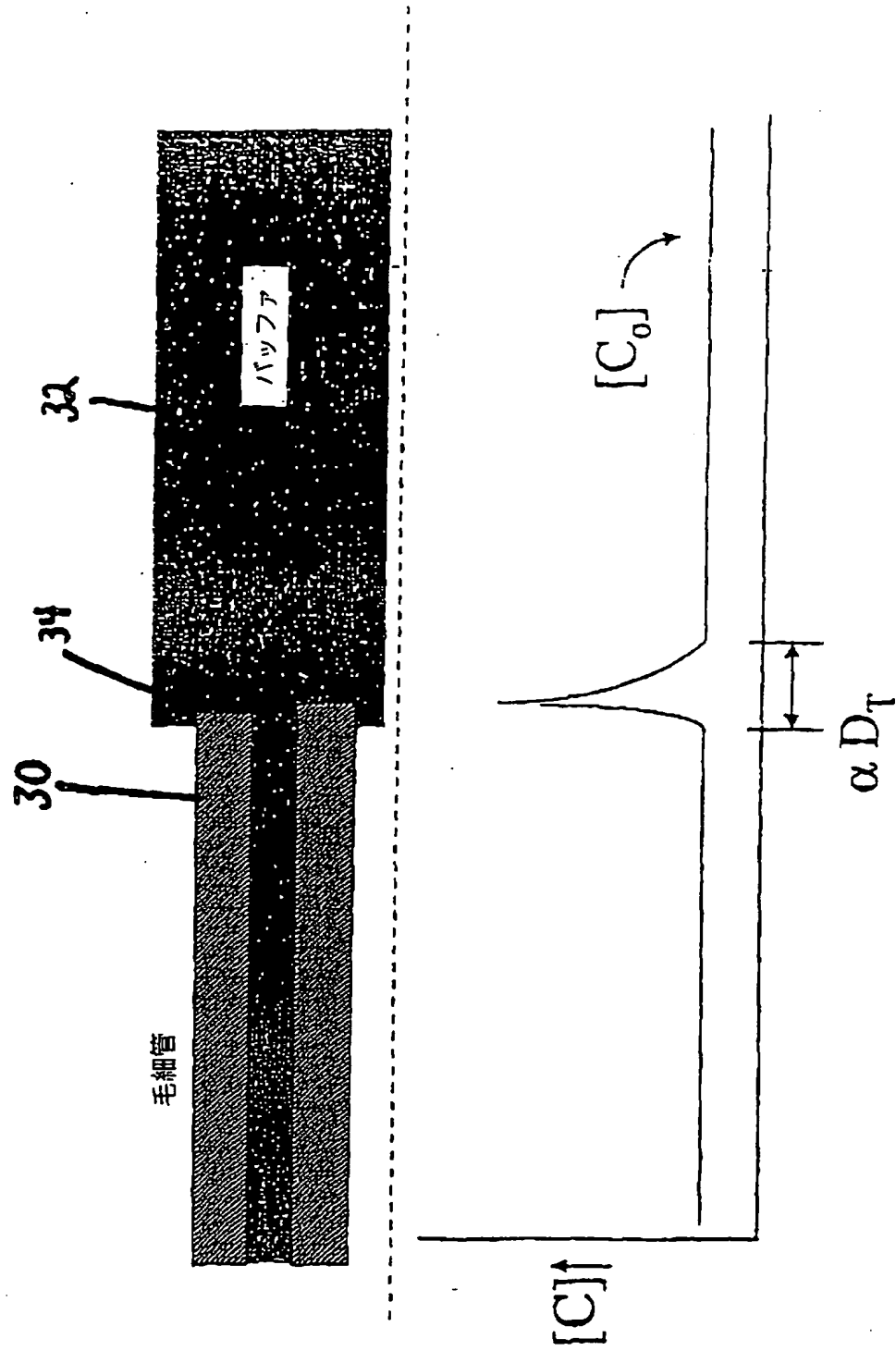
【図2C】



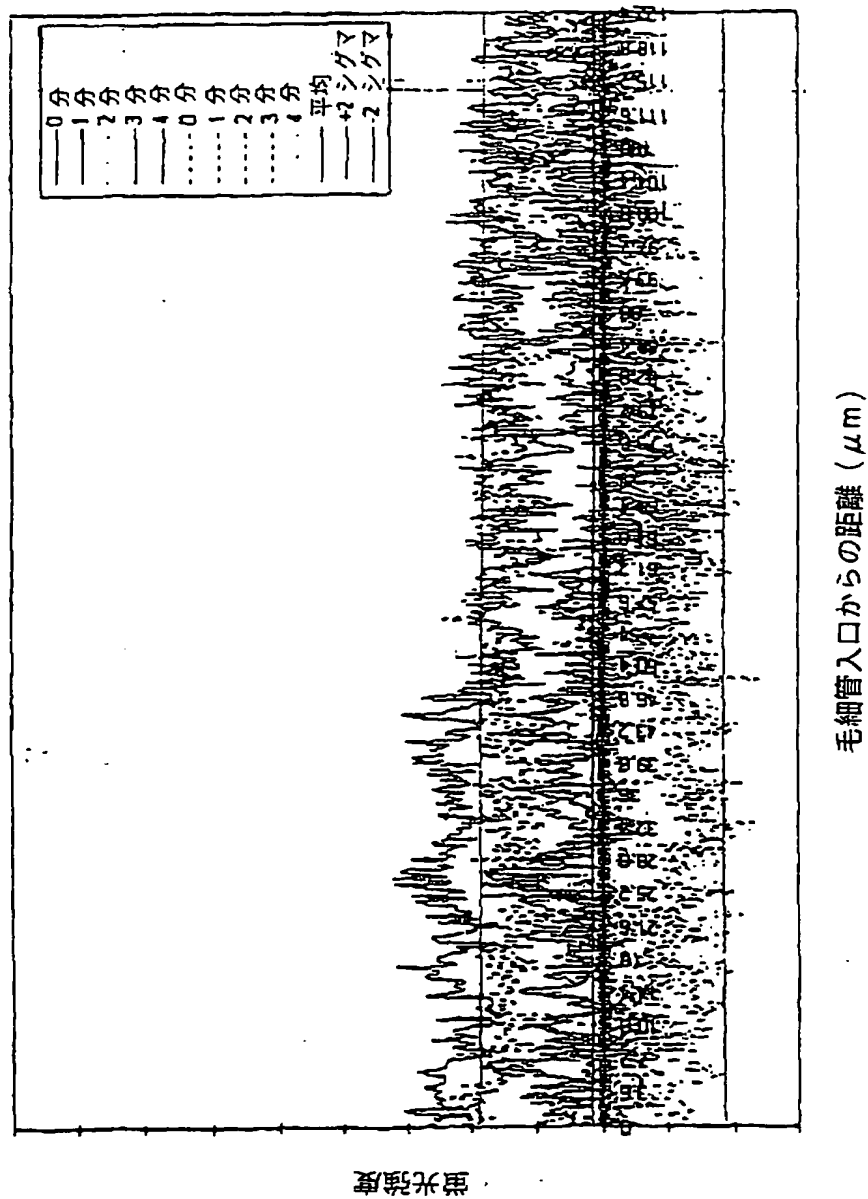
【図3】



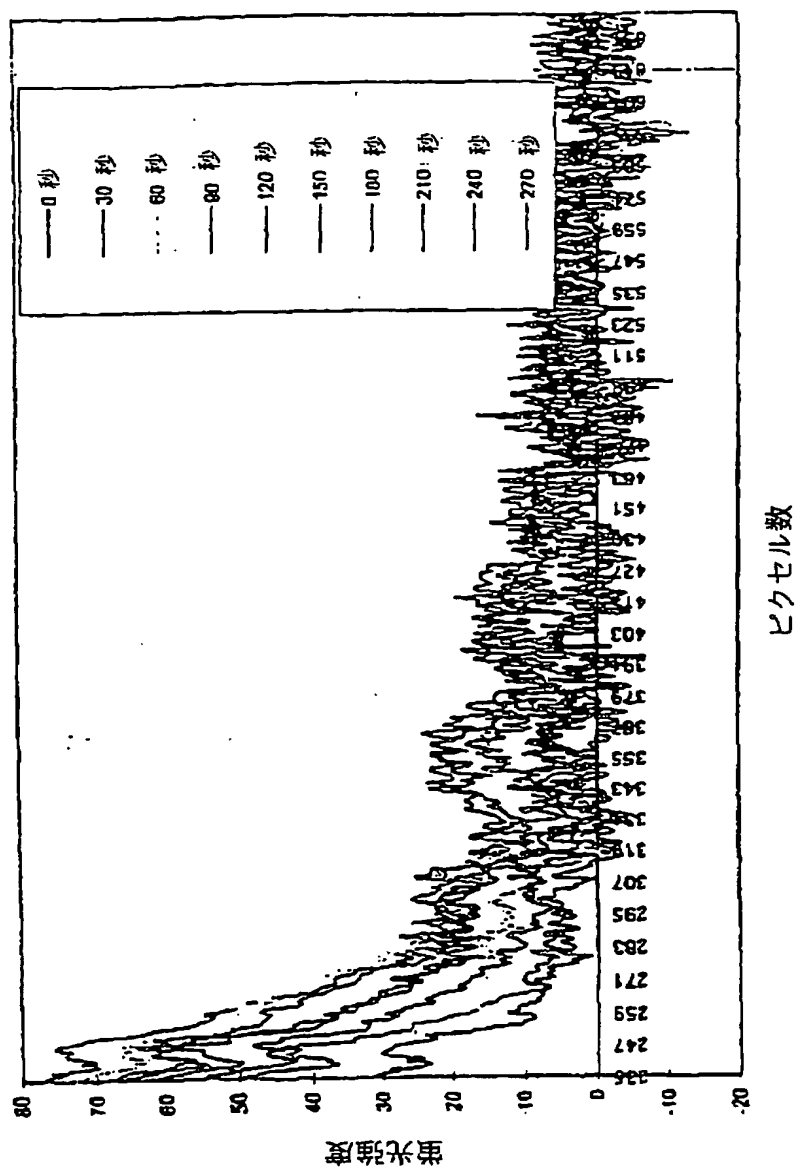
【図4】



【図5】

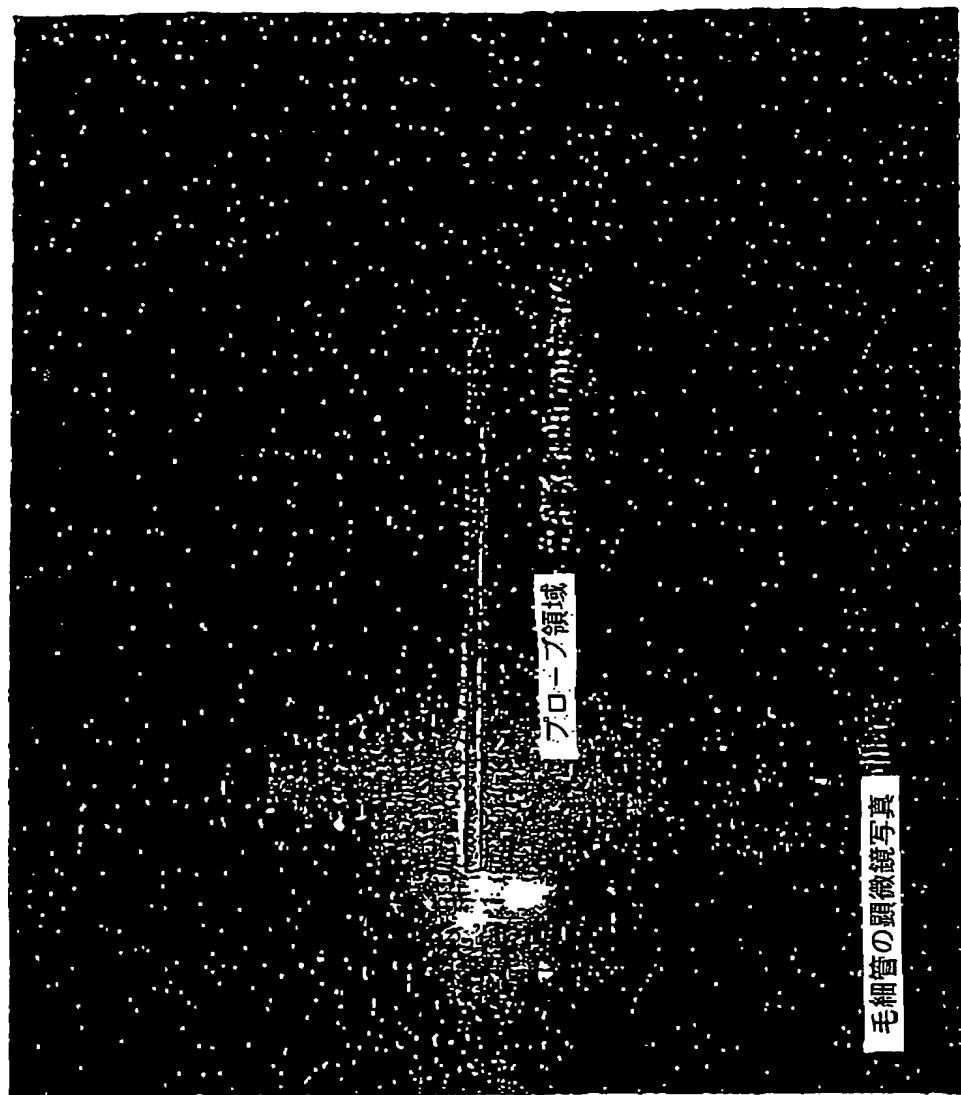


【図6】



【図7A】

初期条件でのラデックス球[C₀]

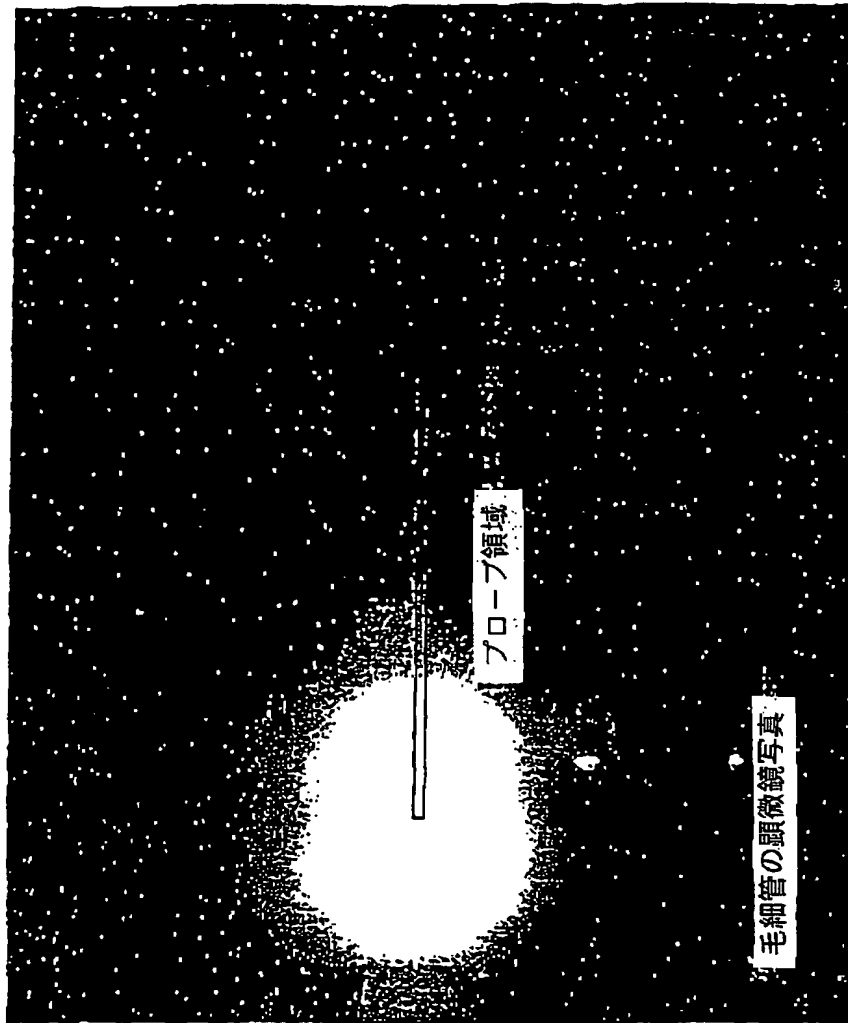


フローブ領域

毛細管の顕微鏡写真

【図7B】

4分フォーカス-14kV, 30.5mmHg, 40.5cm管



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No. PCT/US 99/13340		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 601N27/447		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 601N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 200 050 A (IVORY CORNELIUS F ET AL) 6 April 1993 (1993-04-06) column 5, line 7 - column 6, line 68 column 13, line 7-21; figure 2 ---	1,2,6,8, 11,15
X	WO 96 27793 A (ALLTECH ASSOCIATES INC) 12 September 1996 (1996-09-12) page 15, line 31 - page 26, line 18; figures 3-6 ---	1-3,8, 10,11, 13,15,17
A	WO 96 04547 A (LOCKHEED MARTIN ENERGY SYS INC ; RAMSEY J MICHAEL (US)) 15 February 1996 (1996-02-15) page 39, line 31 - page 41, line 34 --- -/--	1-4,7-17
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (see specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "S" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 20 August 1999		Date of mailing of the international search report 01/09/1999
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer MULLER, T

Form PCT/ISA210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Patent Application No.
PCT/US 99/13340

C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MANZ A ET AL: "ELECTROOSMOTIC PUMPING AND ELECTROPHORETIC SEPARATIONS FOR MINIATURIZED CHEMICAL ANALYSIS SYSTEMS" JOURNAL OF MICROMECHANICS & MICROENGINEERING, vol. 4, no. 4, 1 December 1994 (1994-12-01), pages 257-265, XP000601273 ISSN: 0960-1317 -----	1-17
A	US 5 453 382 A (TSUDA TAKAO ET AL) 26 September 1995 (1995-09-26) cited in the application the whole document -----	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int'l Application No

PCT/US 99/13340

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5200050 A	06-04-1993	US 5298143 A	29-03-1994
WO 9627793 A	12-09-1996	AU 1547899 A	22-04-1999
		AU 5418296 A	23-09-1996
		CA 2187285 A	12-09-1996
		EP 0763199 A	19-03-1997
		JP 9511838 T	25-11-1997
		US 5759405 A	02-06-1998
WO 9604547 A	15-02-1996	AU 701348 B	28-01-1999
		AU 3150895 A	04-03-1996
		CA 2196429 A	15-02-1996
		CN 1168720 A	24-12-1997
		EP 0775306 A	28-05-1997
		JP 10507516 T	21-07-1998
		US 5858195 A	12-01-1999
US 5453382 A	26-09-1995	NONE	